



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder:

申請日：西元 2002 年 12 月 03 日
Application Date

申請案號：091135057
Application No.

申請人：財團法人工業技術研究院
Applicant(s)

局長
Director General

蔡練生

發文日期：西元 2003 年 2 月 25 日
Issue Date

發文字號：09220186300
Serial No.

申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中文	微陣列生物晶片反應器
	英文	
二、 發明人 (共4人)	姓名 (中文)	1. 邱創汎 2. 詹博淵 3. 何志偉
	姓名 (英文)	1. Chung-Fan Chiou 2. Bor-Iuan Jan 3. Chih-Wei Ho
	國籍 (中英文)	1. 中華民國 TW 2. 中華民國 TW 3. 中華民國 TW
	住居所 (中文)	1. 新竹市南區柴橋里12鄰明湖路648巷122弄67號 2. 屏東市仁愛里11鄰中華路373巷5號 3. 苗栗縣通霄鎮通南里中山路5鄰16號
住居所 (英文)	1. 2. 3.	
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓名 (中文)	1. 財團法人工業技術研究院
	名稱或 姓名 (英文)	1. INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH INSTITUTE
	國籍 (中英文)	1. 中華民國 TW
	住居所 (營業所) (中文)	1. 新竹縣竹東鎮中興路四段一九五號 (本地址與前向貴局申請者相同)
	住居所 (營業所) (英文)	1.
	代表人 (中文)	1. 翁正義
代表人 (英文)	1. Weng, Cheng-I	



0648-85127TWE(N1);13910010;chiuemeow.psd

申請日期：	IPC分類
申請案號：	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中文	
	英文	
二、 發明人 (共4人)	姓名 (中文)	4. 楊舒茹
	姓名 (英文)	4. Yang, Shu Ju
	國籍 (中英文)	4. 中華民國 TW
	住居所 (中 文)	4. 新竹市光復路一段108巷26弄20號
	住居所 (英 文)	4.
三、 申請人 (共1人)	名稱或 姓名 (中文)	
	名稱或 姓名 (英文)	
	國籍 (中英文)	
	住居所 (營業所) (中 文)	
	住居所 (營業所) (英 文)	
	代表人 (中文)	
	代表人 (英文)	



0648-8512TWE(N1)-13910010-chiumeow.prd

四、中文發明摘要 (發明名稱：微陣列生物晶片反應器)

本發明係一種微陣列生物晶片反應器。上述微陣列生物晶片反應器包含：一第一構件，其具有一第一凹槽，可容納一樣品溶液或一微陣列生物晶片；以及一第二構件，係以可移動方式設置於第一構件上，其上具有一對應於第一凹槽之第二凹槽，其中設置一組電極，可與上述樣品溶液接觸。

伍、(一)、本案代表圖為：第 2E 圖

(二)、本案代表圖之元件代表符號簡單說明：

A-A' ~ 第 2C 圖之截面；

1 ~ 蓋體；

8 ~ 第一凹槽；

9 ~ 微陣列晶片。

陸、英文發明摘要 (發明名稱：)



一、本案已向

國家(地區)申請專利

申請日期

案號

主張專利法第二十四條第一項優先權

二、主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

申請案號：

日期：

三、主張本案係符合專利法第二十條第一項第一款但書或第二款但書規定之期間

日期：

四、有關微生物已寄存於國外：

寄存國家：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構)：

寄存機構：

寄存日期：

寄存號碼：

熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。



五、發明說明 (1)

發明領域

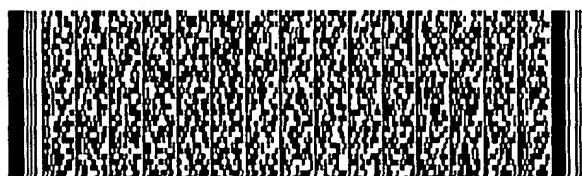
本發明係有關於一種微陣列生物晶片反應器，特別是有關於包含電極之微陣列生物晶片反應器。

發明背景

以現階段科學發展的進步來說，基因資訊對生命的整個過程是相當重要的。生命中所包含的各樣訊息都與基因基本要素的排列有關，舉凡器官的形成、毛髮與皮膚的顏色、疾病的發生、蛋白質的組成與表現以及高矮胖瘦等等，都受到基因的控制。因此，現階段對於生命科學方面的研究大多集中在大規模的基因表現，以及如何快速、方便、準確地得到生物體的基因資訊，可以作為下一個階段的研究，例如精準的藥物開發、基因治療、疾病基因的發現等等。

為了因應以上生命科學研究的快速發展與生物資訊的大量取得，生物晶片發展的相關技術大量且快速地開發與改進，諸如表面化學、螢光檢測光譜學等相關技術、生物晶片製造技術、微流體系統相關技術、生物資訊學和分子生物學的相關技術等。換句話說，生物晶片是一項跨領域整合的發展技術，每一個環節的發展都會牽動生物晶片快速且正確取得生物資訊的重要目標。

以分子生物學為例，相關的發展技術包括樣品前處理 (sample preparation)、基因定序(gene sequence)、探針的設計(probe design)、聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)、電泳分離(electrophoresis)以



五、發明說明 (2)

及基因雜交反應(hybridization)相關技術等等。傳統的分子生物技術對於以上的相關操作所需花費的時間相當長，因此針對上述相關技術都有許多技術上的突破與改進，例如方便快速的樣品前處理試劑、多管道毛細電泳定序儀的開發、快速基因比對軟體對基因探針設計的幫助、微小化PCR晶片的發展、毛細電泳晶片的發展以及各式各樣加速雜交反應的各樣發明。

生物晶片的誕生，可使疾病檢測或生物資訊的取得時間大幅降低，例如，原本以細胞培養技術來檢測疾病或判斷菌種需要三至五天，甚至有時需作感染病原菌之抗藥性測試則須再花費數天到數十天，而運用生物晶片相關技術，則可縮短至6小時內便可取得相關資訊。然而，這6個小時的檢測時間，仍然無法因應某些疾病或醫療過程的實際需求，例如，有些疾病從診斷發現到死亡時間不超過一到兩日。所以，仍在發展中的生物晶片技術，研發人員紛紛將焦點擺在將生物晶片所需的檢測反應時間縮短的議題上。

要縮短檢測時間，就必須從檢驗過程中主要耗時的技術上著手，其中，在上述的6小時檢驗時間當中，PCR技術約需1.5小時，核酸雜交約需4小時，這兩項技術過程佔了整個生物晶片檢測過程約92%的時間。所以，如何縮短這兩項技術的檢測時間成為重點，目前，已有許多研發人員做了相當多的努力。

如Hybridization Helper技術(US Patent



五、發明說明 (3)

5,030,557)，其原理為利用一段核酸序列(即為Helper)，其與檢體核酸互補於探針(probe)核酸與檢體核酸雜交區域之上或下游處，利用此一段核酸(Helper)與檢體核酸雜交的特性，將檢體核酸拉直(解除原本凌亂捲曲之不利雜交構型)，以便進行雜交反應。

另外，還有一種技術，係由Gen-Probe公司所提出之專利發明，稱為Nucleic acid precipitating reagents (US patent 5,132,207)。其原理為利用不同之鹽類緩衝液，使檢體核酸易於沉澱於探針核酸附近，藉由如此的方法來增加檢體核酸的部分區域濃度，以促進雜交反應的進行。

還有一種技術，係由Chiron公司所提出之專利發明，稱為樹枝狀的核酸序列(Branched oligonucleotide multimer)技術(US Patent 5,624,802 與 5,594,118)。其原理為先利用一段探針，此段探針固定於晶片表面，用來捕捉檢體核酸。再利用一段樹枝狀的核酸序列(Branched oligonucleotide multimer，其與檢體核酸互補)接到檢體核酸之上；最後再以標示有螢光或放射線之核酸偵測子互補雜交於樹枝狀的核酸序列上。由於一個樹枝狀的核酸序列可以有數十甚至於數百個偵測子雜交其上，可大大強化偵測強度，故可縮短雜交時間。

此外，一種稱為Volume exclusion agents的技術(US Patent 4,886,741)係由Microprobe公司所提出之專利申請，其利用有機分子以形成網狀巨結構，而此網狀巨結構



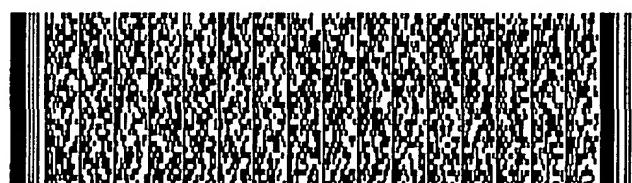
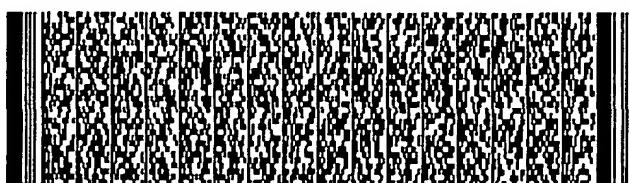
五、發明說明 (4)

可排除部分雜交緩衝液，使得檢體核酸的部分區域濃度大增，進而促進雜交反應的進行。

Becton Dickinson公司所提出之專利發明，稱為兩性碳氫聚合物(Amphipathic hydrocarbon polymer, AHP)的技術(US Patent 5,853,986)，其利用兩性有機分子(親水性及厭水性)形成網狀巨結構。此網狀巨結構可排除部分雜交緩衝液，使檢體核酸的部分區域濃度大增，進而促進雜交反應的進行。

還有一種稱為動態雜交系統(Dynamic hybridization system)的裝置(US Patent 6,255,050)，係由Lorne Park Research公司所提出之專利發明，其利用半滲透膜將探針核酸固定於半滲透膜上，另一方面，以氣動或真空壓縮等方式驅動流體(內含檢體核酸)朝半滲透膜方向流動。由於流體經過滲透膜時檢體核酸將會有延遲通過之現象，故檢體核酸將於半滲透膜附近造成積聚現象，如此可提高檢體核酸的濃度，以提高雜交速率。究其原因，乃是不與探針核酸互補的檢體核酸可從半滲透膜的孔洞中通過。

美國Nanogen公司提出之發明專利US Patent 5,728,532、5,849,486、6,017,696以及6,099,803中，利用電極施加電壓來吸引帶負電性之生物分子，造成電極附近局部的濃度大為提高，而增加與表面所固定之生物探針分子的碰撞機率，以達到提高生物分子雜交速率之目的，同時也利用電極施加一反向電壓，來排除帶負電性之生物分子，利用所控制電壓大小來達到分辨單一鹼基差異之檢



五、發明說明 (5)

驗結果。

美國Genomic Solution公司提出的發明專利US Patent 6,238,910，利用溫度控制微流道中生物樣品的流動，增加生物分子間碰撞之機率，以達到生物分子液體混合及加速雜交反應之目的。

根據Agilent公司所提出之美國專利6,258,593和6,186,659的發明，亦有針對生物分子雜交反應所設計之載片固定裝置，此一封閉的裝置可以有效地提供載片進行生物分子雜交反應時所需之空間，並且利用氣泡帶動溶液的方式加速樣品的混合，達到加速生物分子雜交反應之目的，同時此一裝置，亦增加了生物分子雜交反應操作之方便性。

另外，根據美國專利6,162,400的發明，利用離心力帶動樣品溶液的流動，加速樣品分子的混合及增加與固定於載片上的生物分子之間的碰撞機率，加速生物分子雜交反應的進行。

上述雜交速率增加方法，多半是以提高檢體核酸濃度的方式，或將檢體拉直，或利用樹枝狀結構，或利用樣品液體的流動，增加生物分子間的碰撞機率等，這些讓核酸雜交加速的方法，仍有些許的限制，例如不少需在大尺度下才能運作。」

發明概述

本發明之目的係提供一種微陣列生物晶片反應器，其包含：一第一構件，或稱為載體，其具有一第一凹槽，可



五、發明說明 (6)

容納一樣品溶液；以及一第二構件，或稱為蓋體，係設置於第一構件上，其中設置一組以上的電極，可與該樣品溶液接觸；第一構件與第二構件之間，可為一體成形之方式連結，以提供一固定體積之空間容納樣品溶液。以本發明之微陣列生物晶片反應器，利用上述電極施加一個以上的電場，驅動上述樣品溶液中所含的分子，使分子得以隨電場大小、方向或頻率之改變而改變其移動方向，分子在移動過程中，可增加溶液混合的均勻度，同時加速生物分子間碰撞，因而達到增加生化反應速率、縮短反應時間的目的。

本發明之另一目的係提供一種微陣列生物晶片反應器，其包含：一第一構件，或稱為載體，其具有一第一凹槽，可容納一含有一反應區之微陣列生物晶片；以及一第二構件，或稱為蓋體，係以可移動方式設置於第一構件上，其上具有一對應於該反應區之第二凹槽，其中設置一組以上的電極，可與該樣品溶液接觸。以上述電極施加一個以上之電場於上述樣品溶液，藉由改變任意二支電極之電場大小、方向或頻率，可控制上述樣品溶液中所含分子之運動的速率與方向。

為了讓本發明之上述和其他目的、特徵和優點能更明顯易懂，下文特舉出較佳實施例，並配合所附圖示，作詳細說明如下：

發明之詳細說明

本發明微陣列生物晶片反應器之特徵在於包含一組以



五、發明說明 (7)

上之電極，利用上述電極提供一個以上的電場，驅動生物晶片反應器中樣品溶液所含分子，使上述分子可以隨著電場方向之改變而改變其移動之方向，分子在移動過程中便會增加分子間的碰撞機率，因而增加生化反應之速率縮短反應時間。

本發明微陣列生物晶片反應器中的電極佈放情形可以為如第1A~1E圖所示，於長方形蓋體1上，可以一組電極2，以如第1A或1B圖的形式，或是兩組以上的電極2，以如第1C、1D或1E圖之形式，設置於蓋體1長或寬的兩側或中間，其他形式之變化亦為熟於此技藝人士容易推得。上述電極係由包含，但不限於，金、銀、銅、鎳、白金或不鏽鋼所組成。上述之電極雖為成組設置，實施時並非只有以成組設置之電極互相作用而施加電場，而是可藉手動或電腦程式化設計，調整電場方向、大小或電場方向改變之頻率。例如，調整電場方向係依所需，選擇任意兩支電極，並且任意兩支電極間，陽極與陰極可以任意改變，更可採用交流電作為電源，因而可作各種之電場方向變化。或者，亦可以調整電極間之電位差，得到不同的電場大小，例如介於0至200V。亦或是，調整電場方向改變之頻率，也就是指調整電場作用於樣品溶液的時間。

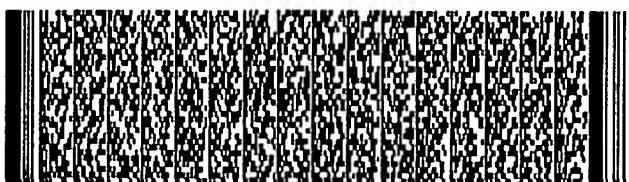
本發明微陣列生物晶片反應器之實施例，此處以第2與3圖兩種型態為例，上述反應器包含第一構件、第二構件以及一組以上之電極，第一構件即是如第2C與2D或3C與3D圖所示之載體7，第二構件即是第2A與2B或3A與3B圖所



五、發明說明 (8)

示之蓋體1。上述蓋體1與載體7可以由有機或無機材料組成，上述有機材料包含，但不限於，合成橡膠、天然橡膠、合成高分子、聚乙稀、聚苯乙稀、聚丙稀以及聚氯乙稀。上述無機材料包含，但不限於，金屬、陶瓷材料、矽晶片以及玻璃。以下分別以第2圖與第3圖說明兩種實施型態。

本發明之一實施型態請參考第2圖，第2A-2B圖為蓋體之示意圖，而第2C-2D圖為載體之示意圖，且第2A、2C圖為上視圖，而第2B、2D圖為正視圖，第2E圖為第2C圖A-A'之截面圖。第2C、2D與2E圖中，載體7包埋有一微陣列生物晶片9，上有一第一凹槽8，可直接承載樣品溶液，其邊界可設計為O型環，防止樣品溶液滲漏，且第一凹槽8的設置目的係為生化雜交反應進行時，提供足夠的分子移動空間讓生物分子進行反應。第2A與2B圖中，蓋體1上對應載體上第一凹槽8之範圍內具有一組電極2，若有兩組以上，或甚至增加一單獨之電極，對應於原來各組電極設置，可自由變化設計，也可互相組合使用。當組合蓋體1與載體7時，第一凹槽8成為一封閉空間，故依需要可在對應於第一凹槽8的蓋體1上設置複數個孔洞5，以便注入或輸出樣品溶液，或是反應後需要清洗時，可注入或輸出清洗溶液，本實施例在玻片上係進行兩個反應點，因此設置兩個孔洞5。此孔洞之設計目的係為了方便樣品以及清洗溶液的進出，以完成生物分子雜交反應。此外，蓋體1以及載體7之間可為一體成形之方式連結，以提供一固定體積之



五、發明說明 (9)

空間容納樣品溶液。

本發明之另一實施型態請參考第3圖，第3A-3B圖為蓋體之示意圖，而第3C-3D圖為載體之示意圖，且第3A、3C圖為上視圖，而第3B、3D圖為正視圖。第3C與3D圖中，載體7表面具有第一凹槽8，係用以承載微陣列生物晶片，本實施例中第一凹槽8為可放入一般載玻片的大小。另載體7上兩端亦設置有蓋體1與載體7之結合點6，可視需要增減其數目或改變其位置。再請參考第3A-3B圖，蓋體1上與載體7接觸面有一容納樣品溶液之第二凹槽3，其邊界4亦與蓋體1材質相同，或者，邊界4也可以設計為O型環，防止樣品溶液滲漏。第二凹槽3的設置目的係為生化雜交反應進行時，提供足夠的分子移動空間讓生物分子進行反應。蓋體1上容納樣品溶液之第二凹槽3範圍內具有一組電極2，如前述，電極組數或需另加一對應之單獨電極，皆可依需要改變，本實施例顯示之電極2設置於第二凹槽3兩側。蓋體1係可移動式設置於載體7上，以結合點6連接，結合點6可相應於載體7適當改變。此外，當組合蓋體1與載體7時，第二凹槽3成為一封閉空間，故依需要可在第二凹槽3設置複數個孔洞5，以便注入或輸出樣品溶液，或是反應後需要清洗時，可注入或輸出清洗溶液，本實施例在玻片上係進行兩個反應點，因此設置兩個孔洞5。此孔洞之設計目的係為了方便樣品以及清洗溶液的進出，以完成生物分子雜交反應。

此外，上述之蓋體1、載體7或電極2不論採用何種材

五、發明說明 (10)

料，皆必須不會與樣品溶液或清洗溶液發生反應。

採用本發明之微陣列生物晶片反應器進行反應之樣品溶液中，包含有機、無機或生物分子中，帶電荷之離子或不帶電荷之中性分子。上述有機分子包含，但不限於，有機酸、有機鹼或胺基酸。上述無機分子包含，但不限於，金屬離子或無機鹽類。上述生物分子包含，但不限於雙股DNA、單股DNA、RNA、蛋白質或勝肽。

採用本發明之微陣列生物晶片反應器進行雜交反應時，整個反應系統更包括一可調整電場強度、交流電場切換頻率以及可以控制電場方向之電源供應器。本發明之一特徵乃係施加外加電場並不斷改變電場方向，讓帶有電荷的生物分子或帶電粒子在一定的區域內移動，甚至帶動中性分子的移動，而達到增加分子碰撞的機率，而非巨觀地讓溶液進行流動或擾動。無須提高檢體核酸的濃度，亦無需精密的微製程加工，不必提高反應溫度，亦非增加整體的流動率，即可增加生物分子雜交反應。

以下係採用本發明微陣列生物晶片反應器所進行之具體實施例。

實施例

採用本發明微陣列生物晶片反應器，配合一可調整電場強度、交流電場切換頻率以及可控制電場方向之電源供應器，在施加交流電場作用下所得之生物晶片反應結果與傳統生物晶片反應(靜置)之結果，如第4圖至第9圖所示。

首先，比較在生物分子探針濃度不同、樣品濃度固定



五、發明說明 (11)

的情形下，採用本發明微陣列生物晶片反應器以及傳統分子生物學方法進行雜交反應的情形。生物分子探針濃度分別為 0.05 , 0.1 和 $0.5 \mu M$ ，而具有螢光分子標幟之樣品濃度皆為 $1 \mu M$ 。採用本發明之微陣列生物晶片反應器，利用交流電壓 $\pm 2.5V$ 、 $60Hz$ 之切換頻率，連續作用 30 分鐘進行生物分子雜交反應，得到結果如第 4A 圖；採用傳統分子生物學方法進行雜交反應，靜置 30 分鐘，得到結果如第 4B 圖。比較兩組結果顯示，本發明利用交流電壓進行樣品混合及分子微區域移動之方法，可以有效地增加生物分子雜交反應之速率。本發明施加交流電壓加速雜交反應速率之裝置可有效地提高雜交反應之效率與速率，達到 75% 以上，甚至達到 99% ；反觀傳統靜置方法所得到的結果落差相當大，甚至無法辨識其雜交反應之結果。換句話說，利用交流電場以固定頻率持續作用於含有生物分子的樣品溶液，可以有效地增加樣品溶液的均勻度，使得生物晶片進行生物分子雜交反應時，生物分子彼此之間的碰撞機率相當，因而得到較為一致的反應結果。

接著，將具有螢光分子標幟之樣品濃度降低至 $0.5 \mu M$ ，以 0.1 和 $0.5 \mu M$ 的生物分子探針濃度，比較採用本發明微陣列生物晶片反應器以及傳統分子生物學方法進行雜交反應的情形。採用本發明之微陣列生物晶片反應器，將交流電壓提高至 $\pm 10V$ 、 $60Hz$ 的切換頻率，連續作用 30 分鐘，進行生物分子雜交反應，得到之結果如第 5A 圖所示；採用傳統生物分子雜交反應，靜置 30 分鐘，得到之結果如



五、發明說明 (12)

第5B圖所示。即使在較低的樣品濃度作用下，由於提高交流電壓，仍可以看出以本發明微陣列生物晶片反應器，利用交流電壓進行樣品混合及分子微區域移動，可以較傳統方法有效地增加生物分子雜交反應之速率。」

此外，仍以不同生物分子探針濃度，固定的樣品濃度下，比較採用本發明微陣列生物晶片反應器以及傳統分子生物學方法進行雜交反應的情形。生物分子探針濃度仍然分別為 0.05 、 0.1 和 $0.5\mu\text{M}$ ，而具有螢光分子標幟之樣品濃度則為 $1\mu\text{M}$ 。採用本發明之微陣列生物晶片反應器，將交流電壓提高至± 25V 、 60Hz 的切換頻率，連續作用 30 分鐘，進行生物分子雜交反應，得到之結果如第6A圖所示；以傳統生物分子雜交反應，靜置 30 分鐘，得到之結果如第6B圖所示。比較結果顯示，以本發明微陣列生物晶片反應器，利用交流電壓進行樣品混合及分子微區域移動，可以較傳統方法有效地增加生物分子雜交反應之速率。」

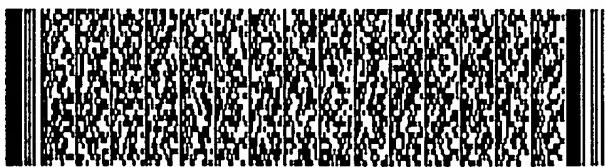
另外，以不同濃度生物探針，比較在 $0.5\sim 10\mu\text{M}$ 濃度生物樣品下的傳統生物分子雜交方法與 $0.5\mu\text{M}$ 濃度生物樣品下採用本發明微陣列生物晶片反應器的結果。生物探針濃度分別為 0.01 、 0.05 、 0.1 和 $0.5\mu\text{M}$ ，而具有螢光分子標幟之生物樣品濃度分別為 $0.5\mu\text{M}$ (第7A圖)、 $1.0\mu\text{M}$ (第7B圖)、 $5.0\mu\text{M}$ (第7C圖)、 $10\mu\text{M}$ (第7D圖)和 $0.5\mu\text{M}$ (第7E圖)。第7A~7D圖係利用傳統雜交反應方法，採取在 40°C 恆溫靜置的方式反應 4 小時，完成生物分子雜交反應的結果。第7E圖則是利用本發明微陣列生物晶片反應器，在室



五、發明說明 (13)

溫下利用交流電壓10V、60Hz電壓轉換頻率進行30分鐘的生物分子雜交反應所得之結果。可以明顯地證明，採用本發明微陣列生物晶片反應器可以有效地增加生物分子雜交反應速率，縮短雜交反應時間與降低生物樣品濃度。傳統生物分子雜交反應為了得到較好的反應結果，往往需要延長雜交反應時間或提高生物樣品的濃度來達成其目的，如此一來，時間與樣品的成本都會相對地提高，不利於生物晶片微陣列的應用。另一方面，得到之結果顯示，不同生物樣品濃度所得到之實驗結果，並不會因為生物樣品濃度提高而雜交效果較好，可能的原因乃是因為生物樣品的混合並不一定均勻所造成。本發明之微陣列生物晶片反應器即為了改善此一現象，利用交流電場來達到生物分子均勻混合之目的，使得生物分子雜交反應可以得到較為一致的實驗結果。

接著，比較採用本發明微陣列生物晶片反應器與市售商品化雜交反應儀的結果。在生物樣品濃度10 nM存在下，採用本發明微陣列生物晶片反應器，施加交流電壓±10V、60Hz電壓頻率變化，進行生物分子雜交反應30分鐘，得到結果如第8A圖所示；同時，利用市售商品化雜交反應儀，在相同生物樣品濃度時分別進行1小時（如第8B圖所示）、2小時（如第8C圖所示）、4小時（如第8D圖所示）、12小時（如第8E圖所示）以及16小時（如第8F圖所示）生物分子雜交反應。結果顯示，相較於市售商品化雜交反應儀所得之雜交反應結果，本發明微陣列生物晶片反應器可以有



五、發明說明 (14)

效地達成快速生物分子雜交反應之目的。

此外，更進行本發明微陣列生物晶片反應器對於不同活動自由度之生物分子探針之雜交反應影響測試。不同活動自由度之生物分子探針係指生物分子探針與基板間不同的連結，舉例來說，本發明所採用之A103之結構為如5'-amino linker-T - (探針序列)-3'，03之結構為如5'-T - (探針序列)-3'，以及P3之結構為如5'-amino linker- (探針序列)-3'。三種不同生物分子探針濃度皆固定為 $0.5 \mu M$ ，樣品濃度亦固定為 $5 \mu M$ 。採用本發明微陣列生物晶片反應器，施加交流電壓 $\pm 10V$ 、 $60Hz$ 切換頻率，連續作用30分鐘，進行生物分子雜交反應，得到之結果如第9A圖所示；採用傳統生物分子雜交反應，靜置30分鐘，得到之結果如第9B圖所示。比較結果可以看出，採用本發明微陣列生物晶片反應器，施加交流電壓進行樣品混合及分子微區域移動，可以有效地提高生物分子雜交反應速率及專一性。因為交流電場的作用，使得03探針不會吸附於晶片表面，並且可以有效地降低後續生物分子雜交反應之非專一性反應。對於探針分子之活動自由度的影響，活動自由度較佳的A103探針分子的反應效果比活動自由度較差之P3探針分子反應結果較為均勻。

結論

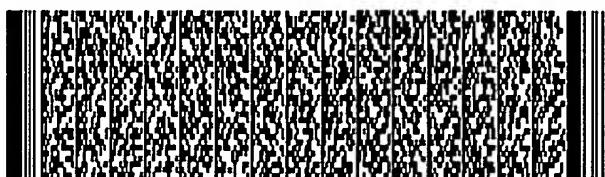
以上結果證明，採用本發明微陣列生物晶片反應器可以有效地加速生化反應之進行。並且在試驗過程中亦發



五、發明說明 (15)

現，以寡核酸微陣列(oligo microarray)而言，樣品濃度太高時，樣品分子之擴散效應在短時間內即可達到平衡，亦即交流電場的作用並不明顯，所得到之生物分子雜交反應之結果並無顯著差異；而在低濃度之樣品中，交流電場作用下之生物晶片，其雜交反應之效率與結果顯著地優於傳統靜置方法所得之結果。除此之外，以傳統靜置方法進行雜交反應之生物晶片，雜交反應結果的再現性較差，亦即此一結果的可靠度仍有待商確，然而以交流電場所控制的生物分子雜交反應，可以得到較為一致的實驗結果，亦即採用本發明微陣列生物晶片反應器及交流電壓，的確可以提高生物晶片所得結果之正確性及可靠度，解決了生物晶片一直以來最為人所詬病的問題。

從另一觀點來分析，在沒有外力作用的情況之下，因為生物分子的分子量較大，而且彼此之間有一定程度的交互作用力，使得生物分子在溶液中的擴散速率大為降低，因而導致生物分子在溶液中分布不均，而且沒有再現性，導致傳統生物晶片所進行雜交反應之結果產生較大的落差。反觀利用電場作用於生物樣品溶液時，因為生物分子本身帶電荷的關係，因此在電場作用之下，生物分子會隨著電場方向規律地前進。因此，當彼此之間有作用力的生物分子存在於樣品溶液中時，亦會因為電場的作用而與未產生親和作用之生物分子有所區別，甚至彼此間親和力較弱的生物分子，亦可因著電場的作用而分離，使得樣品溶液更加地均勻而有利於生物晶片雜交反應之進行。根據以

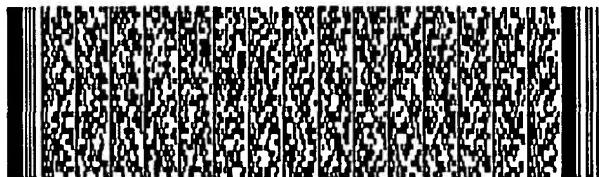


五、發明說明 (16)

上，理論上因著交流電場的作用而有較好的雜交反應結果，亦可從實驗結果得到明確地印證。

此外，以上結果亦顯示，利用電場作用下，在較少的樣品濃度時，生物探針的濃度越高，則雜交反應所得的結果較傳統方法所得之結果好，因為分子之間碰撞的機率相對地較高，但當探針濃度大於一定濃度以上時，則二者之間雜交反應所得到之結果並無顯著地差異，因為樣品分子濃度高時，與探針分子之間的碰撞機率自然提高。例如0.1和0.5 μM 探針濃度所得雜交反應之結果其實並無顯著之差異。此一結果意味著當探針濃度到達一定濃度時，雜交反應即已達到飽和，換句話說，探針濃度高雖可確保雜交反應之結果，其探針之雜交效率卻較低，這是因為當探針濃度高時，探針分子緊密地固定於晶片表面，造成雜交反應時的立體阻礙，反而降低了每一個探針分子的反應空間，(甚至導致雜交反應之結果較探針濃度低時差)。因此，適當之探針濃度，除了可節省生物晶片之製作成本，同時亦是達到最佳雜交反應結果所需考慮的重要參數之一。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟悉此技藝人士，在不脫離本發明之精神和範圍之內，當可作各種之更動與潤飾。因此，本發明之保護範圍，當視後附之申請專利範圍所界定者為準。



圖式簡單說明

第1A~1E圖為本發明實施例之五種電極佈放示意圖。

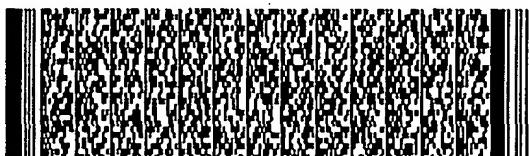
第2A~2E圖為本發明微陣列暨生物晶片反應器實施例之蓋體(2A-2B)與載體(2C-2D)示意圖。第2A、2C圖為上視圖，而第2B、2D圖為正視圖，第2E圖為第2C圖A-A'之間截面圖。

第3A~3D圖為本發明微陣列暨生物晶片反應器另一實施例之蓋體(3A-3B)與載體(3C-3D)示意圖。第3A、3C圖為上視圖，而第3B、3D圖為正視圖。

第4圖顯示不同濃度生物分子探針(0.05, 0.1, 以及0.5 μ M)的雜交反應結果圖，具有螢光分子標幟之生物樣品濃度為1 μ M。第4A圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於交流電壓±2.5V, 60Hz連續作用30分鐘的條件下，進行雜交反應；而第4B圖係採用傳統分子生物學方法，靜置30分鐘，進行雜交反應。

第5圖顯示不同濃度生物分子探針(0.01, 0.05, 0.1以及0.5 μ M)的雜交反應結果圖，具有螢光分子標幟之生物樣品濃度為0.5 μ M。第5A圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於交流電壓±10V, 60Hz連續作用30分鐘的條件下，進行雜交反應；而第5B圖係採用傳統分子生物學方法，靜置30分鐘，進行雜交反應。

第6圖顯示不同濃度生物分子探針(0.05, 0.1以及0.5 μ M)的雜交反應結果圖，具有螢光分子標幟之生物樣品濃度為1 μ M。第6A圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於交流電壓±25V, 60Hz連續作用30分鐘的條件下，進行



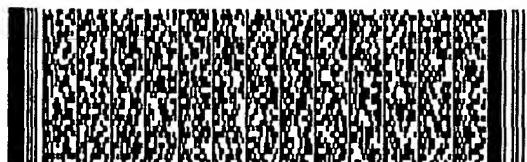
圖式簡單說明

雜交反應；而第6B圖係採用傳統分子生物學方法，靜置30分鐘，進行雜交反應。

第7圖顯示不同濃度生物分子探針(0.01, 0.05, 0.1以及0.5 μ M)的雜交反應結果圖。第7A~7D圖係採用傳統分子生物學方法，於40°C恆溫靜置4小時的條件下，進行雜交反應，其中具有螢光分子標幟之生物樣品濃度分別為0.5 μ M(第7A圖)、1.0 μ M(第7B圖)、5.0 μ M(第7C圖)以及10 μ M(第7D圖)。第7E圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於室溫下、交流電壓±10V, 60Hz之電壓轉換頻率、連續作用30分鐘的條件下，進行雜交反應，其中具有螢光標幟之生物樣品濃度為0.5 μ M。

第8圖顯示濃度10nM之生物樣品存在下，雜交反應結果圖。第8A圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於交流電壓±10V, 60Hz之電壓頻率變化、連續作用30分鐘的條件下，進行雜交反應；第8B~8F圖係採用市售商品化雜交反應儀，進行1小時(第8B圖)、2小時(第8C圖)、4小時(第8D圖)、12小時(第8E圖)以及16小時(第8F圖)之雜交反應。

第9圖顯示濃度0.5 μ M之三種不同生物分子探針A103, 03以及P3的雜交反應結果圖，具有螢光分子標幟之生物樣品濃度為5 μ M。第9A圖係採用本發明微陣列生物晶片反應器，於交流電壓±10V, 60Hz之電壓頻率變化、連續作用30分鐘的條件下，進行雜交反應；第9B圖係採用傳統生物分子學方法，靜置30分鐘，進行雜交反應。



圖式簡單說明

符號之說明

- 1~ 蓋體；
- 2~ 電極；
- 3~ 第二凹槽；
- 4~ 第二凹槽邊界；
- 5~ 孔洞；
- 6~ 結合點；
- 7~ 載體；
- 8~ 第一凹槽；
- 9~ 微陣列晶片。



六、申請專利範圍

1. 一種微陣列生物晶片反應器，其包含：

一第一構件，其具有一第一凹槽，可容納一樣品溶液；

一第二構件，係設置於第一構件上；以及

一組電極，設置於第二構件上，可與該樣品溶液接觸。

2. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件與第二構件係由有機材料組成。

3. 如申請專利範圍第2項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該有機材料包括合成橡膠、天然橡膠、合成高分子、聚乙烯、聚苯乙烯、聚丙烯或聚氯乙烯。

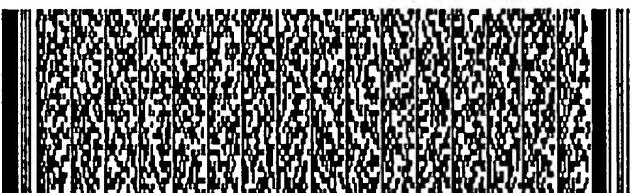
4. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件與第二構件係由無機材料組成。

5. 如申請專利範圍第4項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該無機材料包含金屬、陶瓷材料、矽晶片或玻璃。

6. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第二構件更包含複數個孔，以便組合第一構件與第二構件時與外界連通。

7. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該樣品溶液包含一分子。

8. 如申請專利範圍第7項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該分子包括有機、無機或生物分子，且可為帶電荷之離子或不帶電之中性分子。



六、申請專利範圍

9. 如申請專利範圍第8項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該有機分子包括有機酸、有機鹼或胺基酸。
10. 如申請專利範圍第8項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該無機分子包括金屬離子或無機鹽類。
11. 如申請專利範圍第8項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該生物分子包括雙股DNA、單股DNA、RNA、蛋白質或胜肽。
12. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其更包含一第二組電極，設置於該第二構件上。
13. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其更包含一單獨之電極，對應於該組電極設置於該第二構件上。
14. 如申請專利範圍第1、12或13項所述之微陣列生物晶片反應器，其中各組電極間可交互組合使用。
15. 如申請專利範圍第1、12或13項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該電極係由包含金、銀、銅、鎳、白金或不鏽鋼組成。
16. 如申請專利範圍第1、12或13項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件、第二構件或電極不會與該樣品溶液進行反應。
17. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第二構件更包埋有一微陣列生物晶片。
18. 如申請專利範圍第1項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件、第二構件之間為一體成形之方式連



六、申請專利範圍
結。

19. 一種微陣列生物晶片反應器，其包含：

一第一構件，其具有一第一凹槽，可容納一含有一反應區之微陣列生物晶片；

一第二構件，係可移動式設置於第一構件上，其上具有一對應於該反應區之第二凹槽；以及

一組電極，設置於第二凹槽中。

20. 如申請專利範圍第19項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件、第二構件或微陣列生物晶片係由有機材料組成。

21. 如申請專利範圍第20項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該有機材料包括合成橡膠、天然橡膠、合成高分子、聚乙稀、聚苯乙稀、聚丙稀或聚氯乙稀。

22. 如申請專利範圍第19項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件、第二構件或微陣列生物晶片係由無機材料組成。

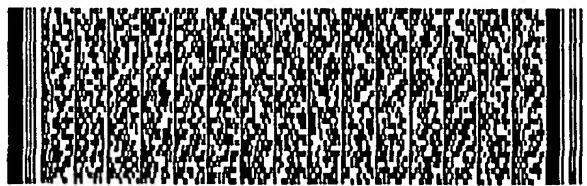
23. 如申請專利範圍第22項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該無機材料包含金屬、陶瓷材料、矽晶片或玻璃。

24. 如申請專利範圍第19項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第二凹槽更包含複數個孔。

25. 如申請專利範圍第19項所述之微陣列生物晶片反應器，其更包含一第二組電極，設置於該第二凹槽中。

26. 如申請專利範圍第19項所述之微陣列生物晶片反

•



六、申請專利範圍

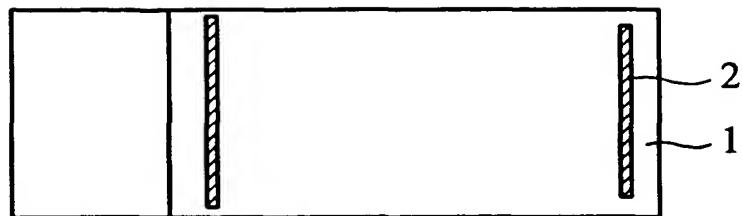
應器，其更包含一單獨之電極，對應於該組電極設置於該第二構件上。

27. 如申請專利範圍第19、25或26項所述之微陣列生物晶片反應器，其中各組電極間可交互組合使用。

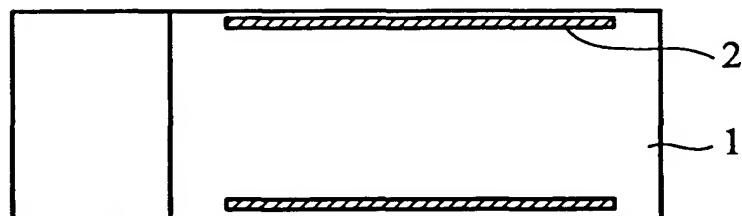
28. 如申請專利範圍第19、25或26項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該電極係由包含金、銀、銅、鎳、白金或不鏽鋼組成。

29. 如申請專利範圍第19、25或26項所述之微陣列生物晶片反應器，其中該第一構件、第二構件或電極不會與該樣品溶液進行反應。

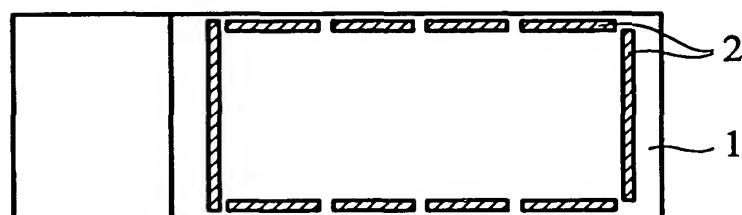




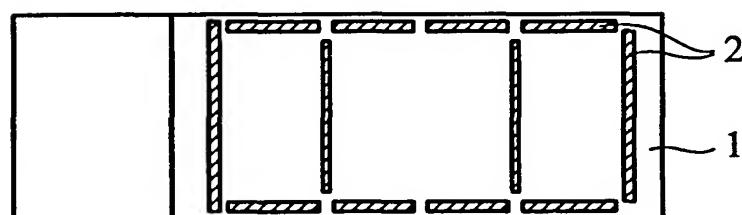
第1A圖



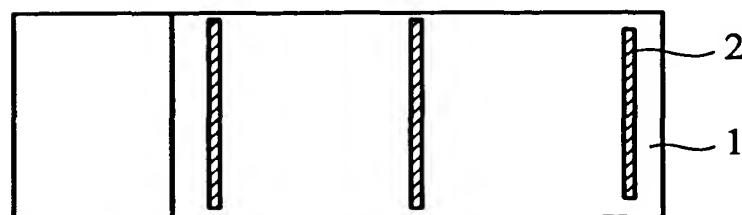
第1B圖



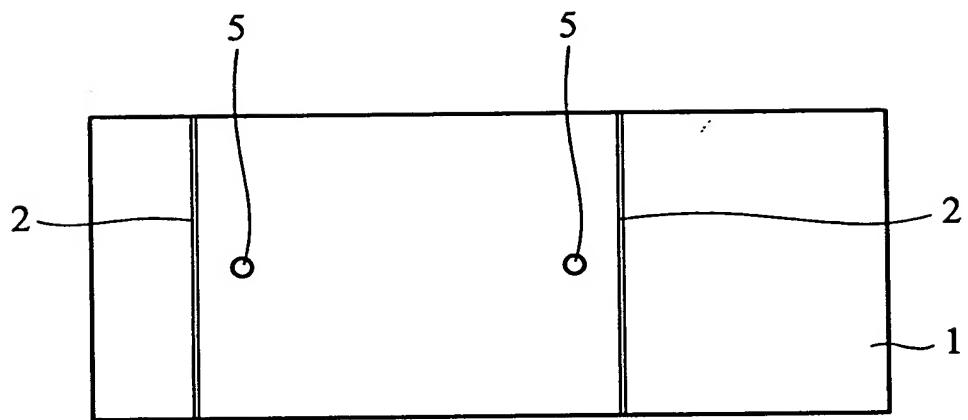
第1C圖



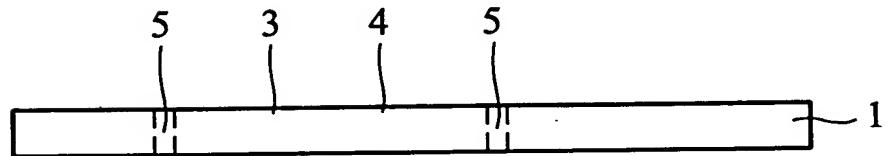
第1D圖



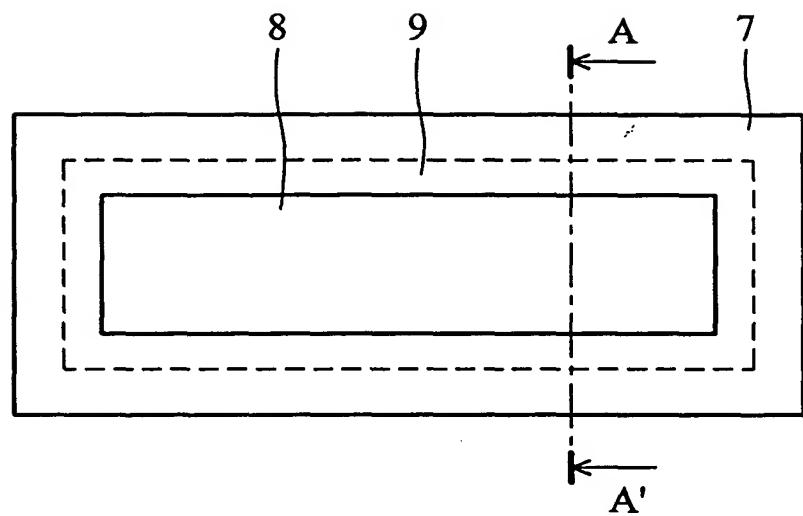
第1E圖



第 2A 圖



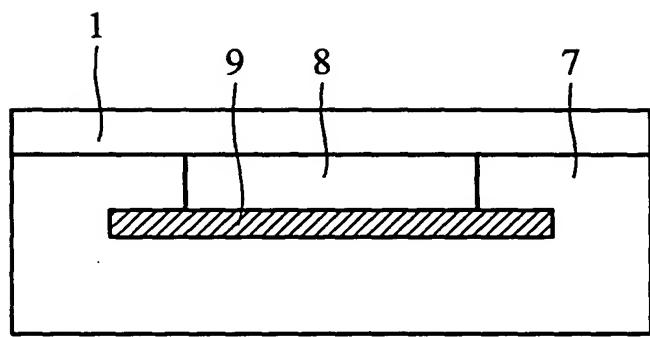
第 2B 圖



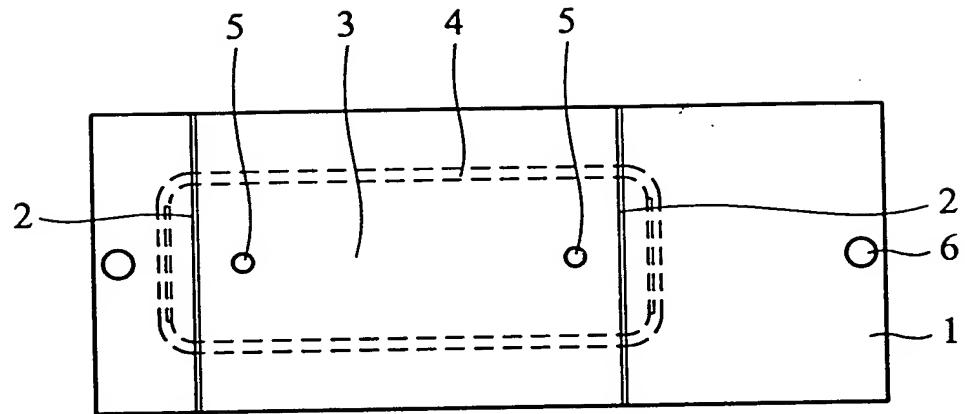
第 2C 圖



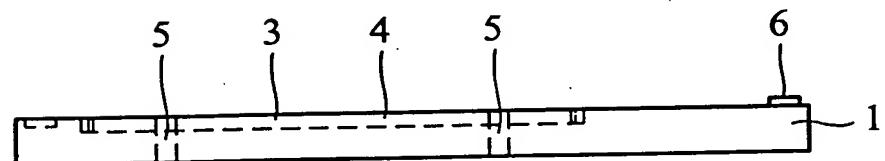
第 2D 圖



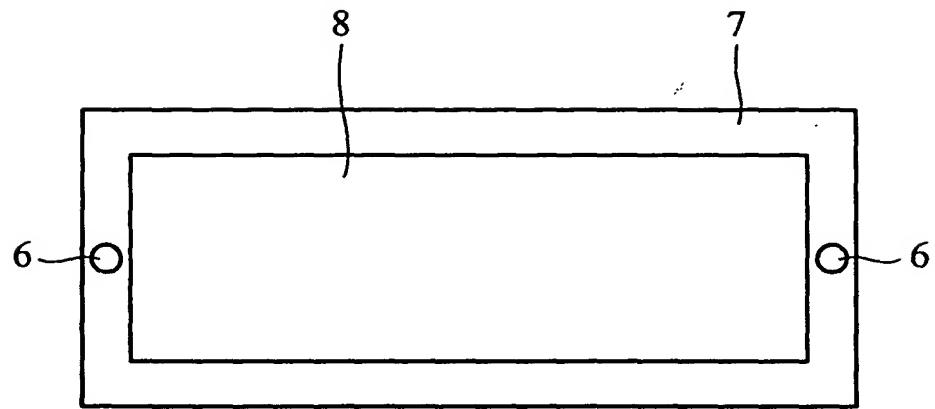
第 2E 圖



第3A圖



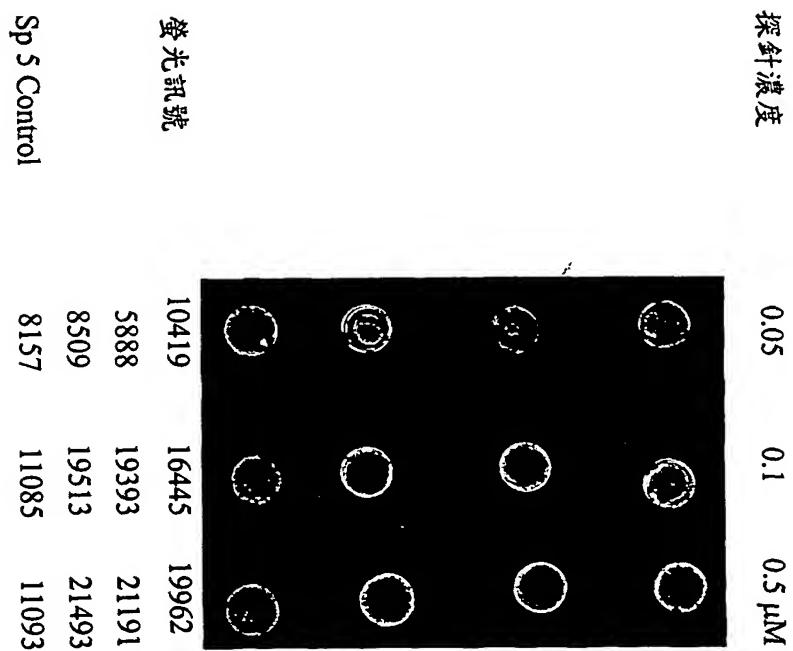
第3B圖



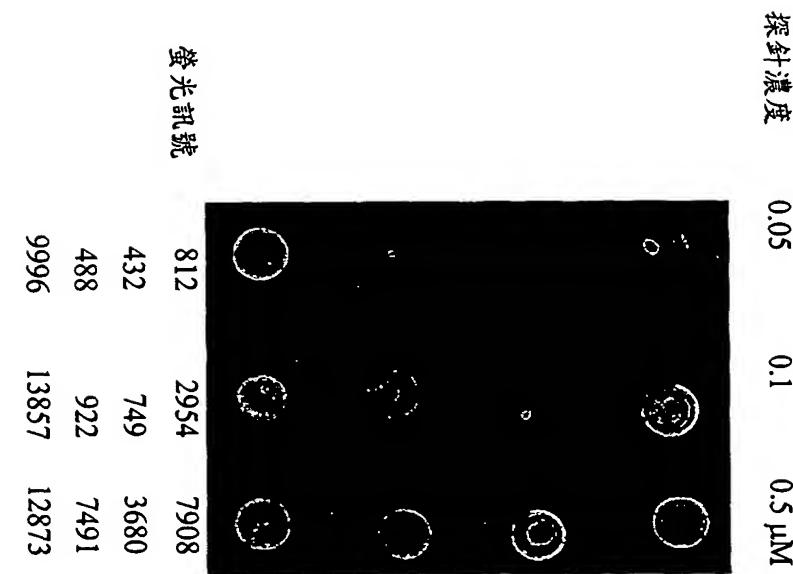
第3C圖



第3D圖

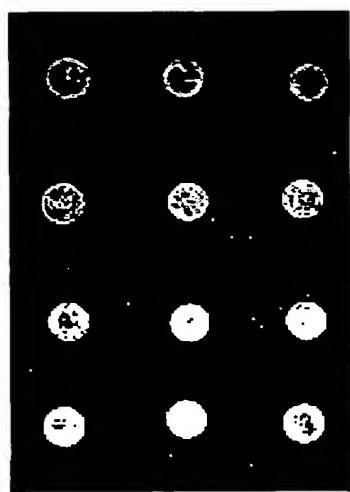


第 4A 圖



第 4B 圖

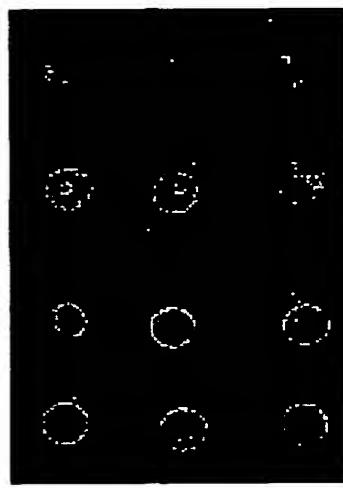
探針濃度 0.01 0.05 0.1 0.5 μM



螢光訊號

11822	36048	57946	58561
11837	38917	64914	62541
8961	27316	56595	63225

探針濃度 0.01 0.05 0.1 0.5 μM



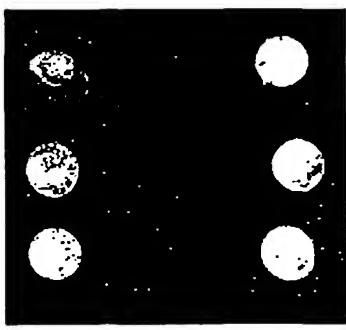
螢光訊號

758	1578	4575	3756
646	4590	11155	4477
1097	2909	6429	8238

第 5A 圖

第 5B 圖

探針濃度 0.05 0.1 0.5 μM

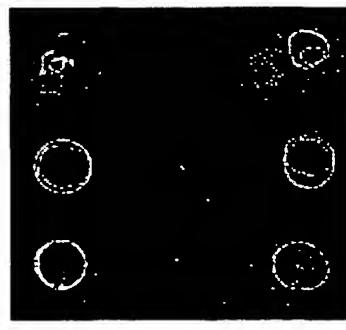


螢光訊號

58678 59213 58554
36620 57712 59592

第 6A 圖

探針濃度 0.05 0.1 0.5 μM

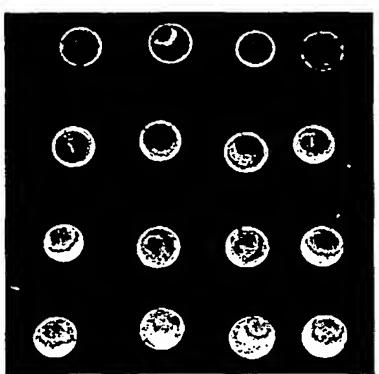


螢光訊號

8325 14783 110670
11049 17053 20853

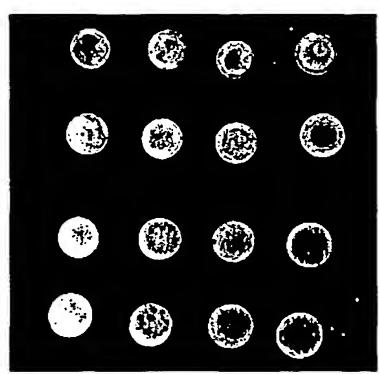
第 6B 圖

探針濃度. 0.01 0.05 0.1 0.5 μM



第 7A 圖

探針濃度 0.01 0.05 0.1 0.5 μM

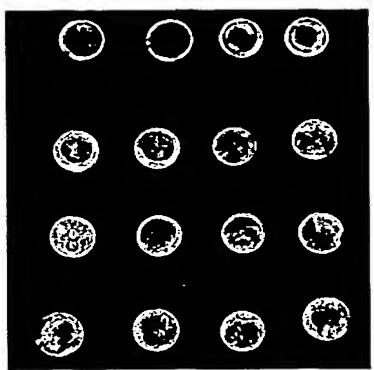


第 7B 圖

螢光訊號	3501	32658	40549	52232
10866	29832	37794	52706	
10529	26799	39029	49274	
8729	22880	44428	47108	

螢光訊號	25675	30995	23487	24215
25951	46846	33762	32545	
30510	53474	53294	48725	
24259	51169	58723	61369	

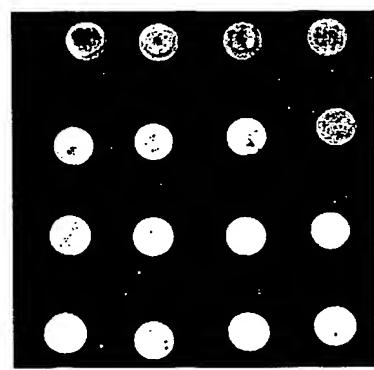
探針濃度. 0.01 0.05 0.1 0.5 μM



第 7C 圖

螢光訊號	25154	27541	27450	32814
20655	18207	29769	32602	
27450	29208	32284	43957	
32814	34573	36928	31209	

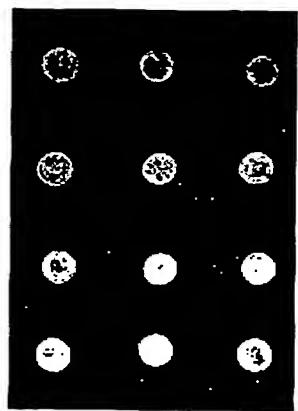
探針濃度 0.01 0.05 0.1 0.5 μM



第 7D 圖

螢光訊號	28377	24296	31228	25087
43936	56352	59075	58039	
62558	61543	59574	58458	
59166	59991	57511	58478	

探針濃度 0.01 0.05 0.1 0.5 μM

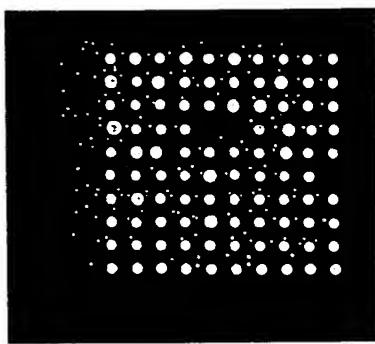


螢光訊號

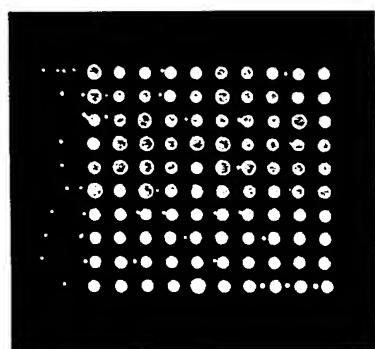
11822	36048	57946	58561
11837	38917	64914	62541
8961	27316	56595	63225

第 7E 圖

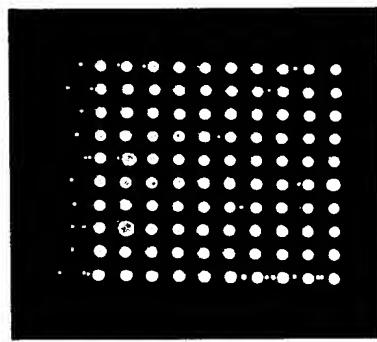
第 8D 圖



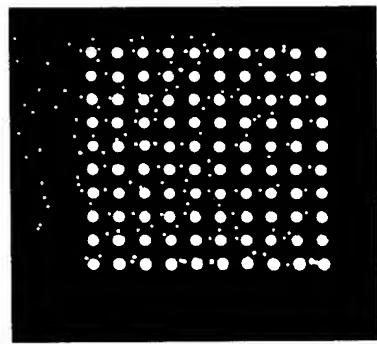
第 8A 圖



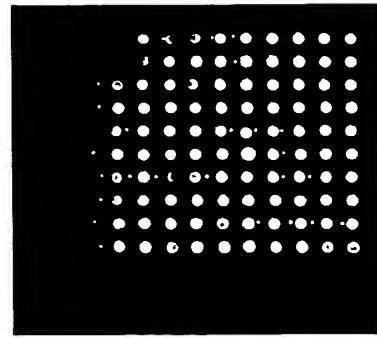
第 8E 圖



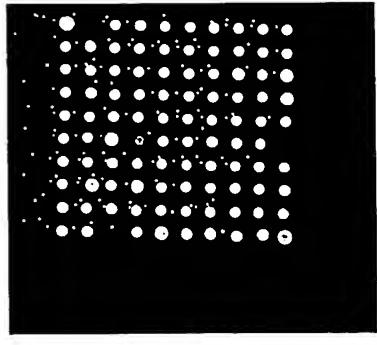
第 8B 圖



第 8F 圖



第 8C 圖



探針濃度

AlO₃

O₃

P₃



螢光訊號

螢光訊號	56428	0	10705
	48048	545	7179

第 9A 圖

探針濃度

AlO₃

O₃

P₃



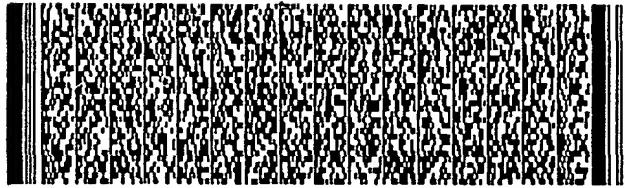
螢光訊號

螢光訊號	14721	12165	5575
	16212	4911	353

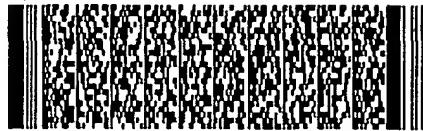
第 9B 圖

申請案件名稱:微陣列生物晶片反應器

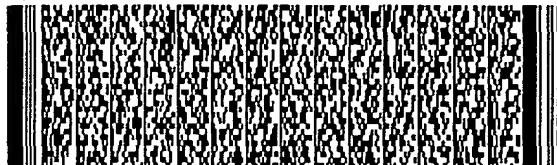
第 1/27 頁



第 2/27 頁



第 3/27 頁



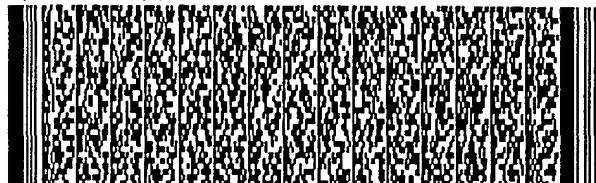
第 4/27 頁



第 5/27 頁



第 5/27 頁



第 6/27 頁



第 6/27 頁



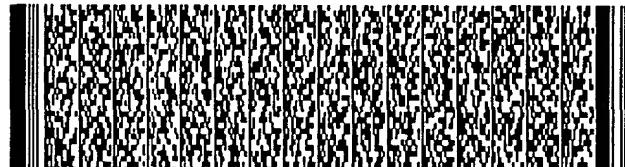
第 7/27 頁



第 7/27 頁



第 8/27 頁



第 8/27 頁



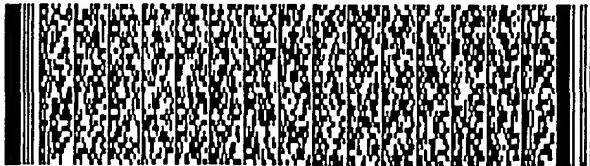
第 9/27 頁



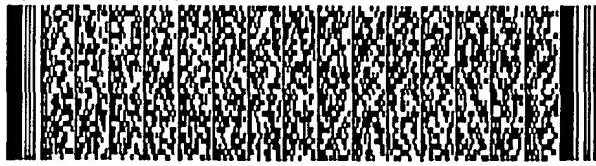
第 9/27 頁



第 10/27 頁

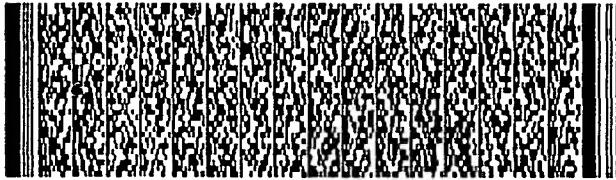


第 10/27 頁

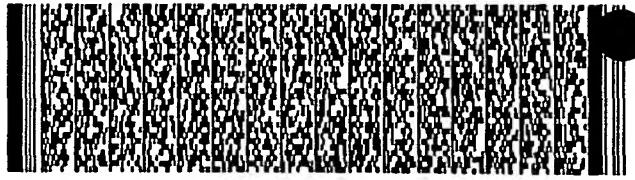


申請案件名稱:微陣列生物晶片反應器

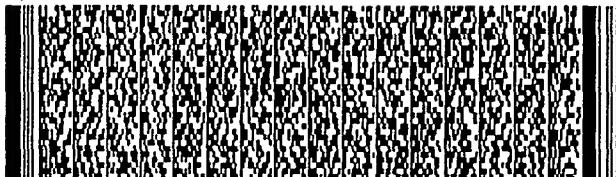
第 11/27 頁



第 11/27 頁



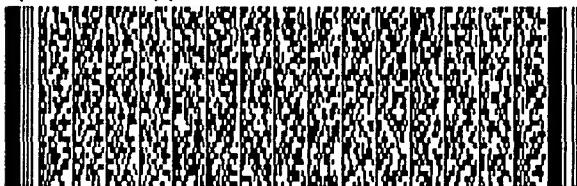
第 12/27 頁



第 12/27 頁



第 13/27 頁



第 13/27 頁



第 14/27 頁



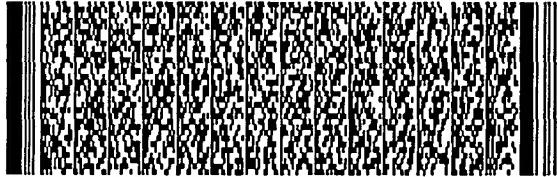
第 14/27 頁



第 15/27 頁



第 15/27 頁



第 16/27 頁



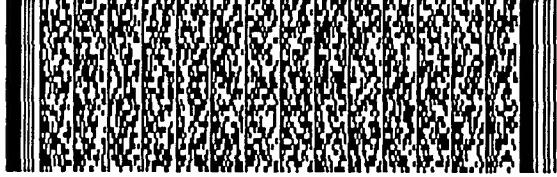
第 16/27 頁



第 17/27 頁



第 17/27 頁



第 18/27 頁



第 18/27 頁

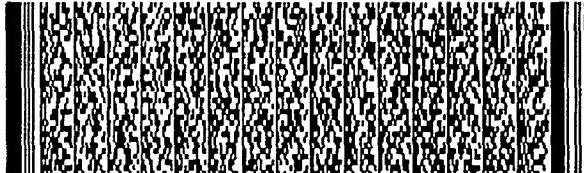


申請案件名稱:微陣列生物晶片反應器

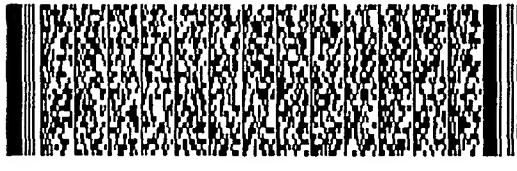
第 19/27 頁



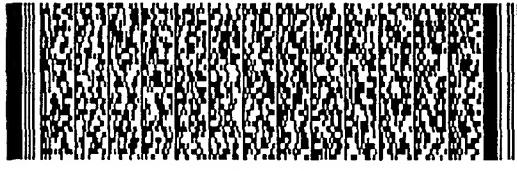
第 20/27 頁



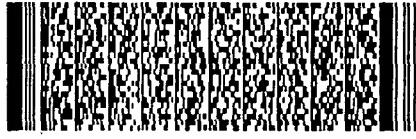
第 21/27 頁



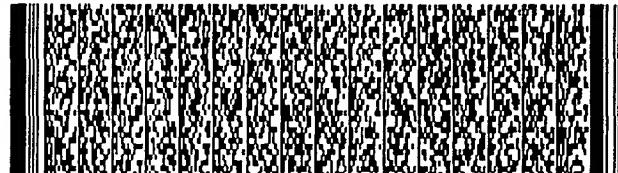
第 22/27 頁



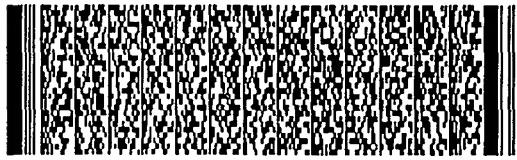
第 23/27 頁



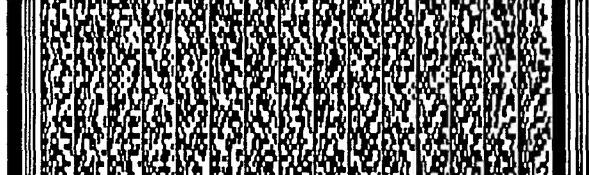
第 25/27 頁



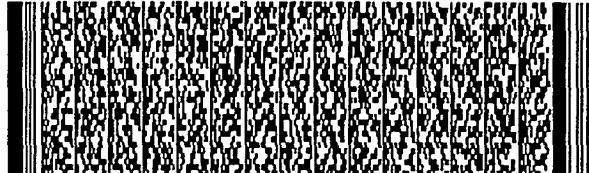
第 27/27 頁



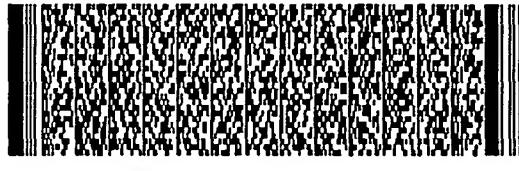
第 19/27 頁



第 20/27 頁



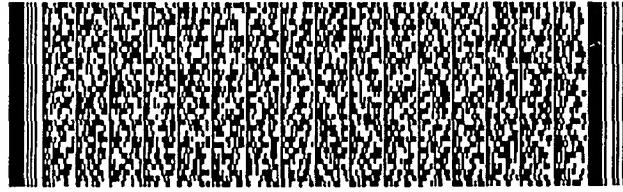
第 21/27 頁



第 22/27 頁



第 24/27 頁



第 26/27 頁

